

Avaliação de três anti-sépticos na redução da microbiota cutânea abdominal em gatos

Evaluation of three antiseptic drugs on the reduction of cats abdominal cutaneous microbiota

Carla Cristina Costa Nogueira,* Robson Maia Franco,** Carmen Helena de Carvalho Vasconcelos,***
Teresinha Ferreira,**** Amary Nascimento Jr.*****

Resumo

O presente trabalho ressalta a importância da anti-sepsia no pré-operatório de pequenos animais para prevenção da ocorrência de infecções cirúrgicas e avalia a redução da microbiota cutânea abdominal em felinos (*Felis catus*) por três anti-sépticos de utilização rotineira (gluconato de clorexidina, iodo-povidona e timerosal). O gluconato de clorexidina e a iodo-povidona apresentaram resultados semelhantes e satisfatórios, com uma redução média de 99,51% e 99,26%, respectivamente, não havendo, estatisticamente, diferença significativa, indicando portanto, serem os agentes químicos mais adequados para a anti-sepsia do campo operatório abdominal em gatos. O timerosal, apesar de ter apresentado atividade de redução bacteriana, não obteve resultados tão satisfatórios, com uma média de 84,1%, apresentando diferença significativa, a nível de 5%, quando comparado com o gluconato de clorexidina e a iodo-povidona. Além disso, por ser um agente químico de uso proibido pelo Ministério da Saúde para a finalidade de anti-sepsia, torna-se inadequado para utilização no campo operatório abdominal em gatos.

Palavras-chave: gluconato de clorexidina; iodo-povidona; timerosal; bactéria; pele; gatos.

Introdução

A fonte mais comum de bactérias contaminantes da ferida cirúrgica é a microbiota residente na pele do animal. A preparação pré-operatória dos pacientes, incluindo a tricotomia e anti-sepsia do local cirúrgico, previnem contra exposição a esta microbiota reduzindo o risco de infecção pós-operatória. Desta forma, o uso criterioso de agentes antimicrobianos no pré-operatório e o manejo cuidadoso da ferida no pós-operatório são medidas de controle importantes. Um anti-séptico cirúrgico ideal deve ter as seguintes características: ser ativo contra uma grande variedade de bactérias, promovendo rapidamente a morte dos organismos, tanto de forma vegetativa quanto esporulada; estar disponível em soluções detergentes que removam a sujeira e a oleosidade da pele; não causar resposta inflamatória quando aplicado; manter a atividade em presença de material orgânico; ter efeito residual prolongado; ser de fácil aplicação e econômico (Phillips et al., 1991).

O presente trabalho avalia experimentalmente a atividade de três anti-sépticos (gluconato de clorexidina, iodo-

povidona e timerosal) na redução da microbiota cutânea abdominal em gatos. Estes três agentes químicos estão disponíveis no mercado, sendo o gluconato de clorexidina um produto de uso recente na cirurgia veterinária brasileira, porém de uso rotineiro na Europa e Estados Unidos na preparação pré-operatória em pacientes humanos e veterinários. A iodo-povidona é o agente químico mais difundido e utilizado na cirurgia veterinária, assim como na humana. O timerosal, comercialmente conhecido como mertiolate, apesar de ter proibida a sua utilização como agente anti-séptico, continua a ser utilizado, não somente em procedimentos cirúrgicos veterinários, mas também humanos, talvez pelo seu baixo custo.

A idéia de avaliar estes anti-sépticos tem como finalidade apresentar aos profissionais da Medicina Veterinária um agente químico que seja realmente válido para o uso em pequenos animais, já que estes apresentam, em relação aos humanos, diferenças significativas como a cobertura de pêlos, anatomia e bactérias da pele, além dos hábitos de higiene.

*Médica Veterinária - Graduação em Medicina Veterinária pela UFF.

**Professor Adjunto IV do Depto. de Tecnologia dos Alimentos, UFF.

***Médica Veterinária - Mestre em Cirurgia Veterinária pela UFF.

****Professor Adjunto IV do Depto. de Patologia e Clínica Veterinária, UFF.

*****Professor Assistente do Depto. de Patologia e Clínica Veterinária, UFF.

Material e métodos

Animais

Foram submetidos a este experimento 17 gatos (12 fêmeas e 5 machos), sem raça definida, aparentemente saudáveis e de pele íntegra. Quatro dos animais apresentavam menos de um ano de idade e os demais eram adultos. Apenas um animal vivia em apartamento, em contato com pisos de cerâmica e sinteco, sendo que os demais viviam em casa, mantendo contato com gramado, terra, pisos de cerâmica ou cimento.

Anti-sépticos

Os três anti-sépticos avaliados foram: gluconato de clorexidina¹ (GC), um agente biguanida, iodo-povidona² (IP), um composto iodóforo, e o timerosal³ (TIM), um composto mercurial orgânico.

Preparação do campo abdominal

Os gatos foram submetidos a contenção farmacológica com cloridrato de cetamina⁴ (11 mg/kg), associado ao sulfato de atropina (0,05 mg/kg), para que os procedimentos fossem realizados de maneira adequada.

Logo após a tranquilização, os animais eram posicionados em decúbito dorsal, tricotomizados na região abdominal com máquina de tosa (lâmina # 40). Os pêlos remanescentes livres foram retirados com o auxílio de um pincel. Tanto a lâmina da máquina, como o pincel eram desinfetados a cada procedimento com álcool a 70%.

Após a tricotomia, três campos alinhados longitudinalmente eram demarcados com um lápis dermatográfico, delimitados por uma placa de alumínio quadricular (4cm x 4cm) esterilizada a cada procedimento.

Na região delimitada no abdômen do animal, friccionava-se um *swab* estéril, colocado em um tubo contendo 2 ml de solução salina estéril, para análise quantitativa da microbiota superficial da pele.

Em seguida, procedeu-se à aplicação dos anti-sépticos com o auxílio de chumaços de gaze manuseados com pinças esterilizadas, dentro das áreas demarcadas, sempre na seguinte ordem: campo anterior - IP, central - GC e posterior - TIM. Após um tempo de cinco minutos, friccionava-se um *swab* para cada campo anteriormente mencionado, objetivando desta maneira avaliar a redução da microbiota pela atuação de cada anti-séptico.

Estes *swabs* eram colocados também em tubos identificados contendo 2 ml de solução salina estéril. Assim, cada animal apresentava quatro amostras, sendo uma anterior a aplicação dos anti-sépticos e outras três referentes à área de atuação de cada um deles. As amostras eram imediatamente transportadas para o laboratório da disci-

plina de Doenças Infecciosas dos Animais Domésticos da UFF, onde procediam-se as sementeiras em meio de cultivo apropriado.

Para facilitar a utilização, os anti-sépticos foram colocados em frascos menores esterilizados e toda semana eram avaliados, através de suas sementeiras em meios de cultivo, para certificar a esterilidade das soluções.

Meio de cultivo e contagem de UFCs

As amostras foram sementeiras em agar-sangue, preparado acrescentando-se 7,5% de sangue de carneiro ao meio base (Agar Casoy⁵).

A sementeira das amostras foi realizada de maneira asséptica, em placas de Petri, por meio da técnica de espalhamento direto dos quatro *swabs*, um em cada placa, previamente identificada da seguinte maneira: Gato 1 - antes, Gato 1 - GC, Gato 1 - IP, Gato 1 - TIM, e assim por diante, até Gato 17. As placas eram em seguida incubadas em estufa a uma temperatura de 37°C e, após um período de 48 horas, procedia-se à contagem de unidades formadoras de colônias (UFCs) crescidas, com halo de hemólise ou não.

Análise estatística

Os percentuais de redução bacteriana total (UFCs com halo de hemólise ou não) e das UFCs com halo de hemólise, foram calculados para cada procedimento a partir da contagem do número de UFCs, através da seguinte fórmula: $[(UFCs \text{ antes} - UFCs \text{ após}) / UFCs \text{ antes}] \times 100$.

A análise de variância, através do teste F de Snedecor, foi utilizada no cálculo estatístico para determinar a significância das percentagens de redução bacteriana total (UFCs com halo de hemólise ou não) e de UFCs com halo de hemólise. O mesmo procedimento foi utilizado para avaliar a significância dos percentuais de redução bacteriana total entre os anti-sépticos.

Resultados

Os resultados percentuais de redução bacteriana total (UFCs com halo de hemólise ou não) e das UFCs com halo de hemólise são apresentados nas tabelas 1 e 2.

Com relação às características morfológicas das bactérias cutâneas dos gatos submetidos ao experimento, através da coloração de Gram, observou-se com frequência cocos Gram-positivos e bastonetes Gram-positivos e Gram-negativos. Foi observado ainda o crescimento de fungos em algumas amostras.

Das 17 amostras cultivadas, 15 apresentaram UFCs com halo de hemólise. A contagem total de UFCs para cada animal encontra-se no Quadro 1.

¹CHLOROHEX (Ceras Johnson S.A.); ²POVIDINE TINTURA (Ceras Johnson S.A.); ³THIMEROSAL (Laboratório Astral Ltda.); ⁴Ketaset® (Fort Dodge®); ⁵Agar Casoy - (Merck, art. n. 05458).

Tabela 1: Percentuais de redução bacteriana total, após a utilização de cada anti-séptico.

ANTI-SÉPTICOS			
ANIMAIS	GC (%)	IP (%)	THI (%)
GATO 01	100	100	16,67
GATO 02	100	100	50
GATO 03	100	100	65
GATO 04	100	99,75	97,53
GATO 05	100	100	88,88
GATO 06	100	100	80
GATO 07	100	100	99,59
GATO 08	100	100	99,20
GATO 09	100	99,50	98
GATO 10	100	100	98,03
GATO 11	100	100	100
GATO 12	100	100	100
GATO 13	93,75	90,62	90,62
GATO 14	98,30	98,30	59,32
GATO 15	99,62	100	98,87
GATO 16	100	99,80	97,20
GATO 17	100	99,41	97,67

Tabela 2: Percentuais de redução de UFCs com halo de hemólise após utilização de cada anti-séptico.

ANTI-SÉPTICOS			
ANIMAIS	GC (%)	IP (%)	THI (%)
GATO 01	100	100	66,70
GATO 02	100	100	50
GATO 03	100	100	12,50
GATO 04	100	100	80
GATO 05
GATO 06
GATO 07	100	100	100
GATO 08	100	100	99,60
GATO 09	100	100	-
GATO 10	100	100	100
GATO 11	100	100	100
GATO 12	100	100	100
GATO 13	100	100	91,67
GATO 14	100	100	35,71
GATO 15	100	100	92,59
GATO 16	100	100	99,60
GATO 17	100	100	100

Quadro 1: Contagem total de unidades formadoras de colônias (UFCs)

ANIMAL	AMBIENTE	RESULTADOS (UFCs)											
		ANTES			GC			IP			THI		
		n.h.	h.	Tot.	n.h.	h.	Tot.	n.h.	h.	Tot.	n.h.	h.	Tot.
GATO 01	CASA/ Ci, T	9	3	12	0	0	0	0	0	0	9	1	10
GATO 02	CASA/ Ci, T	10	2	12	0	0	0	0	0	0	5	1	6
GATO 03	CASA/ Ce,Ci,G,T	30	8	38	0	0	0	0	0	0	6	7	13
GATO 04	CASA/ Ce,Ci,G,T	400	5	405	0	0	0	1	0	1	9	1	10
GATO 05	APTO/ Ce,Si	9	0	9	0	0	0	0	0	0	1	0	1
GATO 06	CASA/ Ci	5	0	5	0	0	0	0	0	0	1	0	1
GATO 07	CASA/ Ci	12	15	27	0	0	0	0	0	0	2	0	2
GATO 08	CASA/ Ci,G,T	250	250	500	0	0	0	0	0	0	3	1	4
GATO 09	CASA/ Ci	200	1	201	0	0	0	1	0	1	3	1	4
GATO 10	CASA/ Ci	50	1	51	0	0	0	0	0	0	1	0	1
GATO 11	CASA/ Ci	100	1	101	0	0	0	0	0	0	0	0	0
GATO 12	CASA/ Ci	80	2	82	0	0	0	0	0	0	0	0	0
GATO 13	CASA/ Ci,T	20	12	32	2	0	2	3	0	3	2	1	3
GATO 14	CASA/ Ci,T	45	14	59	1	0	1	1	0	1	15	9	24
GATO 15	CASA/ Ci,T	240	47	267	1	0	1	0	0	0	1	2	3
GATO 16	CASA/ Ce,Ci,G,T	250	250	500	0	0	0	1	0	1	13	1	14
GATO 17	CASA/ Ce,Ci,G,T	160	12	172	0	0	0	1	0	1	4	0	4

Ce = cerâmica; Ci = cimento; G = grama; Si = sinteco; T = terra; GC = gluconato de clorexidina; IP = iodo-povidona; THI = thimerosal; n.h.= não hemolítica; h = hemolítica; Tot. = total.

Ressalta-se ainda que não foi observada dermatite de contato aguda após a aplicação dos anti-sépticos.

A análise estatística permitiu observar que houve uma redução bacteriana significativa, a nível de 1%, pela atuação dos três anti-sépticos, não só na avaliação do percentual de redução bacteriana total como nas de UFCs com halo de hemólise. A média dos percentuais de redução bacteriana de cada anti-séptico foi calculada e representada graficamente, encontrando-se os seguintes valores: (1) Média percentual de redução bacteriana total - 99,51% (GC); 99,26% (IP) e 84,1% (TIM) (Fig.1) e (2) Média percentual de redução de UFCs com halo de hemólise - 100% (GC); 100% (IP) e 75,22% (TIM) (Fig.2).

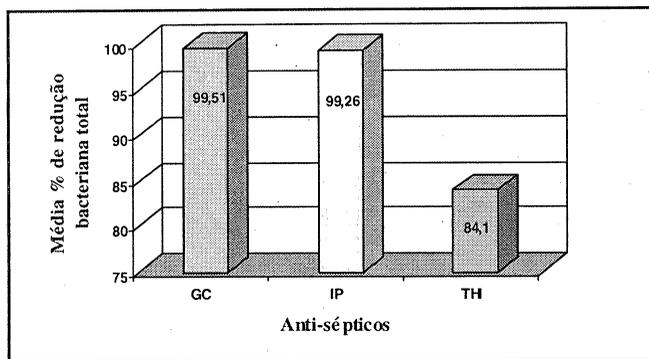


Figura 1: Média dos percentuais de redução bacteriana total da microbiota cutânea abdominal de gatos após utilização de 3 anti-sépticos.

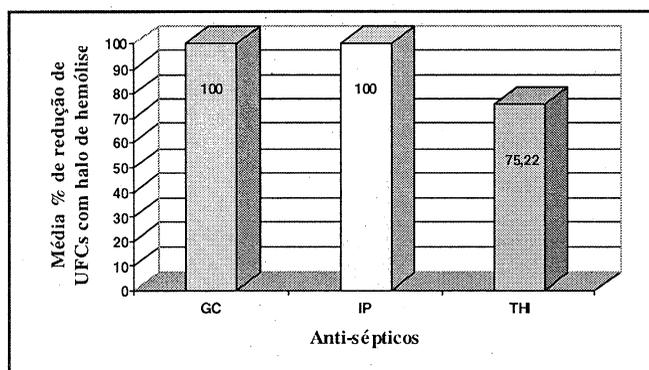


Figura 2 - Média dos percentuais de redução de UFCs com halo de hemólise da microbiota cutânea abdominal de gatos após utilização de 3 anti-sépticos.

Comparativamente, não houve diferença significativa entre o GC e a IP, porém houve diferença significativa, ao nível de 5%, entre estes e o TIM.

Discussão

A utilização de agentes anti-sépticos adequados para a preparação do campo operatório objetivando a prevenção de infecções pós-operatórias em pequenos animais é de capital importância, uma vez que a maioria das técnicas pré-operatórias de anti-sepsia, principalmente em relação ao uso de agentes químicos, são baseadas em estudos humanos. Como há diferenças significativas entre estas espécies, não seria válido extrapolar os resultados encontrados na literatura da medicina humana. Romatowski (1989), em uma revisão de literatura sobre a prevenção e controle de infecções cirúrgicas comenta que a natureza limitada de informações veterinárias leva à necessidade frequente da recorrência à literatura médica humana. Entretanto, há riscos inerentes em extrapolar informações de uma espécie para outra. Até que trabalhos veterinários suficientes sejam desenvolvidos, as técnicas de controle de infecção aplicadas em hospitais humanos poderiam servir de guia para a cirurgia em pequenos animais.

A elevada ocorrência de UFCs com halo de hemólise ressalta a importância da anti-sepsia do campo operatório abdominal frente ao potencial patogênico das espécies bacterianas que apresentam este comportamento.

Nenhum animal submetido a este experimento apresentou dermatite de contato aguda após a aplicação dos anti-sépticos, porém, dois trabalhos realizados por Osuna et al., (1990, 1992), relataram a ocorrência de reações dérmicas agudas em aproximadamente 50% das áreas preparadas com iodo-povidona. Por causa deste problema, este produto tem sido amplamente substituído pelo clorexidina para preparação do campo operatório em hospitais humanos. Após revisar a literatura, o mesmo autor concluiu que a significativa dermatite de contato aguda após a preparação pré-operatória da pele é provavelmente subestimada e ainda, que a alta incidência de reações dérmicas observadas após a aplicação de iodo-povidona faz com que o clorexidina seja mais indicado para alguns pacientes.

O gluconato de clorexidina e a iodo-povidona são, comprovadamente, agentes bactericidas de amplo espectro. No entanto, vários autores relatam em seus trabalhos vantagens do GC em relação à IP, tais como a atividade residual prolongada, manutenção da atividade antibacteriana em presença de matéria orgânica e baixa reação tecidual (Lee et al., 1988; Boddie et al., 1990; Osuna et al., 1990; Phillips et al., 1991; Swaim et al., 1991; Fries, 1993).

Neste experimento observou-se estatisticamente que o GC e a IP apresentaram atividade similar de redução bacteriana, sendo, portanto, compatível com os resultados dos trabalhos de Osuna *et al.* (1990), Phillips *et al.* (1991) e Swaim *et al.* (1991). O timerosal, apesar de ter apresentado atividade de redução bacteriana, não obteve resultados tão satisfatórios quanto os demais.

Inúmeros pesquisadores demonstraram que a ação antibacteriana dos compostos mercuriais na célula vegetativa é primariamente bacteriostática e apenas levemente bactericida, sendo imprudente a sua utilização quando se dispõe de outros agentes mais eficientes. Os detritos de matéria orgânica prontamente dissipam sua ação (Huber, 1992).

A portaria nº 930, de 27 de agosto de 1992, anexo V, do Ministério da Saúde, proíbe que os compostos mercuriais orgânicos sejam utilizados para a finalidade de anti-sepsia. O timerosal, um composto mercurial orgânico, apesar de não ser recomendado, continua a ser um dos mais utilizados nos hospitais brasileiros (Martins et al., 1991).

Conclusões

Nas condições do presente experimento pode-se concluir, em relação à atividade de redução bacteriana, que o gluconato de clorexidina e a iodo-povidona apresentaram resultados semelhantes e satisfatórios, indicando, portanto, serem os agentes químicos mais adequados para a

anti-sepsia do campo operatório abdominal em gatos. O thimerosal não apresentou resultados tão satisfatórios na atividade de redução bacteriana quando comparado com o gluconato de clorexidina e a iodo-povidona, concluindo-se

desta maneira que, além de ser um composto de uso proibido pela Lei Federal para a finalidade de anti-sepsia, não seria o agente químico mais adequado para preparação pré-operatória do campo abdominal em gatos.

Abstract

This study evaluate the reduction of the cutaneous microbiota on the abdominal region of the feline (*Felis catus*) by three antiseptic drugs (chlorhexidine gluconate, povidone-iodine and thimerosal). Chlorhexidine gluconate and povidone-iodine yields similar results with mean reduction of 99.51% and 99.26% respectively, and did not have significant statistical differences, suggesting to be the most appropriated chemical agents for cats abdominal operative site antiseptics. Thimerosal, although showing bacterial reduction, did not offered satisfactory results, with a mean reduction of 84.1%, and when compared statistically with chlorhexidine gluconate and povidone-iodine, showed significant difference at 5% level of confidence. Besides, being a forbidden chemical agent by the federal law for antiseptics, thimerosal becomes improper for cats abdominal operative site.

Keywords: chlorhexidine gluconate; povidone-iodine; thimerosal; bacterium; skin; cats.

Agradecimentos

Os autores expressam seus agradecimentos a Helder Sebastião Nogueira, Estatístico Analista, pelo desenvolvimento dos cálculos estatísticos, e também à Ceras Johnson S.A. e Merck S.A. Indústrias Químicas, pelo fornecimento dos produtos utilizados neste trabalho.

Referências bibliográficas

- BODDIE, R. L., WATTS, J. L., NICKERSON, S. C. In vitro and in vivo evaluation of a 0,5% chlorhexidine gluconate teat dip. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.196, p. 890-893, 1990.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. Portaria n. 930 de 27 de agosto de 1992. *Diário Oficial*. Brasília, DF, 4 set. de 1992, p. 12279 -12282. Seção I.
- FRIES, C. L. Assessment and Preparation of the Surgical Patient. In: SLATTER, D. *Textbook of Small Animal Surgery*. 2 ed. Philadelphia: W.B. Saunders. 1993. 2 v. 2370 p. v. I, Section 2, Chapter 13, p.137-147.
- HUBER, W. G. Antissépticos e desinfetantes. In: BOOTH, N. H.; McDONALD, L. E. *Farmacologia e Terapêutica em Veterinária*. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1992. 997p. Seção 14, cap. 47, p. 671-632.
- LEE, A. H., SWAIM, S. F., McGUIRE, J. A., HUGHES, K. S. Effects of chlorhexidine diacetate, povidone-iodine and polyhidroxidina on wound healing in dogs. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, v. 24, p. 77-84, 1988.
- MARTINS, F. M., SILVA, M. G., GONTIJO, P. P. Relação entre a resistência a antimicrobianos e anti-sépticos em *Pseudomonas aeruginosa*. *Rev. Microbiol.*, v. 22, p. 34-38, 1991.
- OSUNA, D. J., DeYOUNG, D. J., WALKER, R. L. Comparison of three skin preparation techniques in the dog. Part 1: Experimental trial. Part 2: Clinical trial in 100 dogs. *Vet. Surg.*, v. 19, p. 14-23, 1990.
- OSUNA, D. J., DeYOUNG, D. J., WALKER, R. L. Comparison of an antimicrobial adhesive drape and povidone-iodine preoperative skin preparation in dogs. *Vet. Surg.*, v. 21, p. 458-462, 1992.
- PHILLIPS, M. F., VASSEUR, P. B., GREGORY, C. R. Chlorhexidine diacetate versus povidone-iodine for preoperative preparation of the skin: a prospective randomized comparison in dogs and cats. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, v. 27, p. 105-108, 1991.
- ROMATOWSKI, J. Prevention and control of surgical wound infection. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.194, p. 107-113, 1989.
- SWAIM, S. F., RIDDELL, K. P., GEIGER, D. L., HATHCOCK, T. L., McGUIRE, J. A. Evaluation of surgical scrub and antiseptic solutions for surgical preparation of canine paws. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 198, p. 1941-1945, 1991.